## (12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

### (19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle

Bureau international



### 

(43) Date de la publication internationale 10 février 2005 (10.02.2005)

**PCT** 

# (10) Numéro de publication internationale WO 2005/012913 A2

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup>:

G01N 33/68

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2004/001678

- (22) Date de dépôt international: 30 juin 2004 (30.06.2004)
- (25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

03/08186 4 juillet 2003 (04.07.2003)

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : IN-STITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM) [FR/FR]; 101,

rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement): ICHAS, François [FR/FR]; 104, avenue de Candau, F-33600 Pessac (FR). DE GIORGI ICHAS, Francesca [IT/FR]; 104, avenue de Candau, 33600 Pessac (FR). PIAZZA, Pier-Vincenzo [IT/FR]; 20, rue Père Louis de Jabrun, F-33000 Bordeaux (FR). DESSOLIN, Jean [FR/FR]; Bâtiment B, 3, allée Philippe de Champaigne, F-33700 Merignac (FR). SCHEMBRI, Laura [IT/FR]; 2, rue Roustaing, F-33400 Talence (FR). TOMASELLO, Flora [IT/FR]; 2, rue Roustaing, F-33400 Talence (FR). LARTIGUE, Lydia [FR/FR]; Résidence Square Primerose, 223, avenue République, F-33200 Bordeaux (FR).

- 74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

#### Publiée :

 sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

**(54) Title:** METHOD FOR DEMONSTRATION OF A MOLECULAR EVENT IN A CELL BY MEANS OF FLUORESCENT MARKER PROTEINS

(54) Titre : PROCEDE DE MISE EN EVIDENCE D'UN EVENEMENT MOLECULAIRE DANS UNE CELLULE GRACE A DES PROTEINES MARQUEURS FLUORESCENTES

(57) Abstract: The invention relates to a method for demonstration of the occurrence of a molecular event, particularly in a cell, characterised by the detection of the "solubilisation" of a fixed protein marker (or the fixing of a solubilised protein marker) which is a direct or indirect marker for the occurrence of the particular molecular event. Said protein marker is present in the cell before the above detection, the cell being subjected to a permeabilisation of the plasma membrane before detection, which liberates the solubilised protein into the extracellular medium, the presence of the marker protein thus being detected in the cell or the extracellular medium by any appropriate means, which permits the detection of whether the solubilisation, or the fixing have taken place and, hence, the corresponding molecular event.

(57) Abrégé: La présente invention concerne un procédé de mise en évidence de la survenue d'un événement moléculaire particulier dans une cellule, caractérisé en ce que on détecte la "solubilisation" d'une protéine marqueur "fixée" (respectivement la "fixation" d'une protéine marqueur "solubilisée") qui est un marqueur direct ou indirect de la survenue de l'évènement moléculaire particulier, laquelle protéine marqueur est présente dans la cellule avant la détection précédente, la cellule étant, avant la détection, soumise à une perméabilisation de la membrane plasmique qui libère la protéine solubilisée dans le milieu extracellulaire, la présence de la protéine marqueur étant alors détectée dans la cellule ou le milieu extracellulaire par tout moyen approprié, ce qui permet de déterminer si la solubilisation, respectivement la fixation, ont eu lieu et donc l'événement moléculaire correspondant.

